©Entomologischer Verein Apollo e.V. Frankfurt am Main; download unter www.zobodat.at

Nachr. entomol. Ver. Apollo, Frankfurt/Main, N.F. **13** *(3a): 329–342*
Mai 1993 – ISSN 0723-9912

Sonderheft/Special Issue in memoriam Werner Thomas

Das „Hoherodskopfverfahren" zur serienmäßigen Genitalpräparation sowie generelle Kommentare zur Präparationsmethodik bei Lepidoptera

von

Wolfgang A. NÄSSIG

Zusammenfassung: Das „Hoherodskopfverfahren" wurde ursprünglich von DRECHSEL (1972) eingeführt. Es basiert auf der Verwendung von Plexiglasplatten mit Bohrungen, in denen die Mazeration von Genitalien stattfinden kann. Durch Variation von Plattenstärke und Durchmesser wie Tiefe der Bohrungen kann das Verfahren für Lepidopteren aller Größen Anwendung finden.

Es werden Anmerkungen zur Methodik der Genitalpräparation gemacht: Aufbewahrung der Abdominalhäute, Ausblasen des Aedoeagus, Erhalt der Strukturen des Apparats durch nicht zu intensive Mazeration, Langzeitaufbewahrung in „Eppendorf"-Polypropylengefäßen, Einbettung mit Euparal auf Objektträgern oder zwischen Acrylfolien, die auf die Nadel zum Falter gesteckt werden können (letztere Methode ist nicht geeignet zur Fotografie).

The "Hoherodskopf" method for dissecting series of genitalia, with general comments on dissection methods in Lepidoptera

Abstract: The "Hoherodskopf" method was originally introduced by DRECHSEL (1972) for dissecting large series of insects. It consists of a plate of "Plexiglas" (TM) (glass-like, hard polymetacrylate) with several borings in it. The abdomina of the lepidoptera are put into these borings and treated with NaOH or KOH solutions in a heater. Variation of the thickness of the plate and the diameter and depth of the borings allows serial dissection of differently sized abdomina.

Generally, dissection of lepidopteran genitalia should include the preservation of the abdominal pelt. If not too small, the aedeagus of male genitalia should be inflated, i.e., the aedeagus must be treated either with a brush or with an injection needle to get the vesica everted to see its structure and shape and, if present, cornuti or scobination. The genitalia should not be macerated for too long

©Entomologischer Verein Apollo e.V. Frankfurt am Main; download unter www.zobodat.at

a time or with too strong lye so that the sclerotization is not fully lost; the structures should keep their original form on the slide. (In some cases, the aedeagus will have to be treated a second time with lye to get the vesica everted.) After preliminary cleaning of the dissected genitalia, they may be kept for long intervals in 90–100 % alcohol in small, tightly closed polypropylene tubes ("Eppendorf Microtubes" (TM), 1.5 ml) together with the label. In these tubes, a stain with small amounts of chlorazol black may take place. Final preparation (after rehydration and softening) can be delayed for months or years. Final embedding in Euparal (TM) takes place either on a glass slide or (for microlepidoptera and small macrolepidoptera only) between two thin sheets of polymetacrylate, which then can be kept together with the insect on the same pin. This latter method does not provide good slides for photography; it is only good for reference specimens and quick identification and should never be used for type material. Extraordinary thick and complex structures must be kept in fluid medium to avoid destruction of these structures during the flattening process on the slide; the "Eppendorf" tubes may be used therefore. Specimens and their genitalia slides or tubes must bear labels with the same unique reference code which allows reliable identification.

Einleitung

Das sogenannte „Hoherodskopfverfahren" zur Genitalpräparation wurde in der ökologischen Forschungsstation der Universität Gießen (Künanzhaus) auf dem Hoherodskopf (Vogelsberg, Hessen) entwickelt und von DRECHSEL (1972) in die Literatur eingeführt. Ich selbst bekam das Verfahren anläßlich meiner Diplomarbeit von Werner THOMAS vorgestellt, der es im Künanzhaus mitentwickelte und benutzte, und erweiterte die Methodik über die Mikrolepidopteren hinaus auch für größere Lepidopteren in den folgenden Jahren. Das Verfahren, das eine große Erleichterung bei Serienuntersuchungen bietet, ist offenbar trotz der Arbeit von DRECHSEL weithin noch unbekannt geblieben. Ich möchte hier das Hoherodskopfverfahren sowie Modifikationen davon erneut vorstellen und dazu auch einige generelle Anmerkungen zur Technik der Genitalpräparation geben.

Dieser Artikel ist meinem verstorbenen Freund Werner THOMAS gewidmet.

©Entomologischer Verein Apollo e.V. Frankfurt am Main; download unter www.zobodat.at

Das Hoherodskopfverfahren

DRECHSEL (1972) führte das Verfahren, das auf der Verwendung von Plexiglasplatten mit Serien von Bohrungen, in denen nebeneinander gleichzeitig mehrere Abdomina mit Lauge in einem Wärmeschrank behandelt werden können, speziell für größere Serien von zu untersuchenden Insekten, insbesondere Mikrolepidopteren und Coleopteren, ein.

Die allgemeinen Vorteile des Verfahrens liegen nicht nur, wie von DRECHSEL zu Recht gerühmt, in der Möglichkeit, größere Serien von Präparaten zu Identifikationszwecken in kurzer Zeit durchzuziehen, sondern schon in der besseren Ordnung während der Mazeration: Anstelle mit Reagenzgläsern und von der Lauge angefressenen Etiketten herumzujonglieren, hat man in den Löchern auf der Lochplatte eine natürliche Ordnung vorliegen, die eine Verwechslung praktisch ausschließt. Man markiert die Löcher der Platte mittels eines wasserfesten Filzstiftes auf der äußeren Schnittkante (siehe Fotos) und hat damit eine zweifelsfreie Reihenfolge vorgegeben. Gleichzeitig mit der Vorbereitung der Mazeration bereitet man für jedes Präparat schon ein kleines „Eppendorf"-Polypropylengefäß („Eppendorf-Reaktionsgefäß", 1,5 ml Inhalt) mit 90- bis 100prozentigem Alkohol und dem Etikett vor. Diese Gefäße werden in einem Schaumstoffblock (Styropor o. ä.) in der gleichen Reihenfolge wie die Präparate auf der Mazerationsplatte aufbewahrt, so daß das Genital nach der Mazeration und dem Freipräparieren und Säubern sofort zu seinem dazugehörigen Etikett in das richtige „Eppendorf"-Gefäß gegeben werden kann.

Der Vorgang des Verfahrens ist folgender: Die zu untersuchenden Tiere werden ausgewählt, jedem Individuum wird eine Präparatenummer zugeordnet (exakte Buchführung in einem Präparateverzeichnis!). Die Etiketten mit den Präparatenummern werden in doppelter Ausführung hergestellt; das eine Etikett kommt sofort an die Nadel zu dem Falter und das andere in ein „Eppendorf"-Gefäß mit 90—100%igem Alkohol. Die Abdomen bzw. die letzten 3—5 Segmente davon werden abgeschnitten und in der richtigen Reihenfolge in die Löcher der Lochplatte gelegt. Dabei muß selbstverständlich die parallele Reihenfolge von Faltern mit Etiketten, Löchern in der Lochplatte mit den Abdomina und „Eppendorf"-Gefäßen mit den zweiten Etiketten eingehalten werden. Sorgfältiges, ordentliches Vorgehen ist notwendig und selbstverständlich.

Die Abdomina in den Löchern auf der Lochplatte werden mit etwa

©Entomologischer Verein Apollo e.V. Frankfurt am Main; download unter www.zobodat.at

drei- bis zehnprozentiger Lauge (KOH oder NaOH in wäßriger Lösung) beträufelt bis zur Oberkante des Lochs. Die Konzentration der Lauge und die Behandlungsdauer richten sich nach Erfahrungswerten; wegen der unterschiedlichen Sklerotisierung der Genitalapparate in verschiedenen Familien und Gattungsgruppen kann keine allgemeingültige Regel angegeben werden, das muß für jede Schmetterlingsgruppe an unwichtigem Material ausgetestet werden. Ein Tropfen Alkohol (Isopropanol oder Äthylalkohol) erhöht die Benetzungsfähigkeit des Abdomens.

Die Lochplatten mit den Präparaten werden dann in einem Wärmeschrank bei etwa 90–100 Grad Celsius (je nach Sklerotisierungsgrad) etwa ein bis anderthalb Stunden erhitzt. Anstelle eines Wärmeschrankes kann sicher auch ein alter elektrischer Backofen mit Temperaturreglung (nicht über 100 Grad, um Siedeverzug zu vermeiden) verwendet werden. Ein Abdecken der Löcher mit Objektträgern, wie von DRECHSEL empfohlen, ist dabei nicht unbedingt nötig, verhindert aber ein zu starkes Eindicken der Lauge (teilweise noch verstärkt durch das Körperfett dickleibiger Falter).

Nach Abschluß der Mazeration werden die Genitalarmaturen in etwa fünf- bis zehnprozentigem Alkohol in einer Petrischale oder einem ähnlichen flachen Gefäß unter einer binokularen Prismenlupe im Durchlicht unter ständiger optischer Kontrolle freipräpariert und gesäubert. (Nur bei extrem kleinen Objekten kann man die Präparation in den Löchern der Lochplatte vornehmen, wie es DRECHSEL 1972 vorschlug.) Normalerweise muß man hierbei mehrere Stufen (Schalen) hintereinanderschalten, da die Schuppen und Haare sowie die Zersetzungsprodukte von Fettkörper, Muskeln und anderen Weichteilen sehr schnell das Gefäß verschmutzen und optische Kontrolle erschweren. Verwendet werden hierbei feinste Uhrmacherpinzetten, feine, kurzhaarige Pinsel und eventuell Injektionsspritzen zum Ausblasen (siehe unten).

Nach Abschluß von Freilegung und Säuberung werden das Genital mit allen Einzelteilen (Vorsicht, damit keine Detailstrukturen verlorengehen, etwa der Aedoeagus oder Bruchstücke) sowie die gleichfalls gesäuberte Haut des Abdomens (siehe unten) gemeinsam in das zugehörige „Eppendorf"-Gefäß zum richtigen Etikett hinzu überführt, in dem sie schadlos längere Zeit verbleiben können, ehe ein Dauerpräparat angefertigt wird.

Wichtig während der Präparation ist auf jeden Fall, sich in die Geometrie und Funktion des jeweiligen Genitalapparats hineinzudenken. Nur wer die Präparation des Genitalapparats eigenhändig vornimmt

©Entomologischer Verein Apollo e.V. Frankfurt am Main; download unter www.zobodat.at

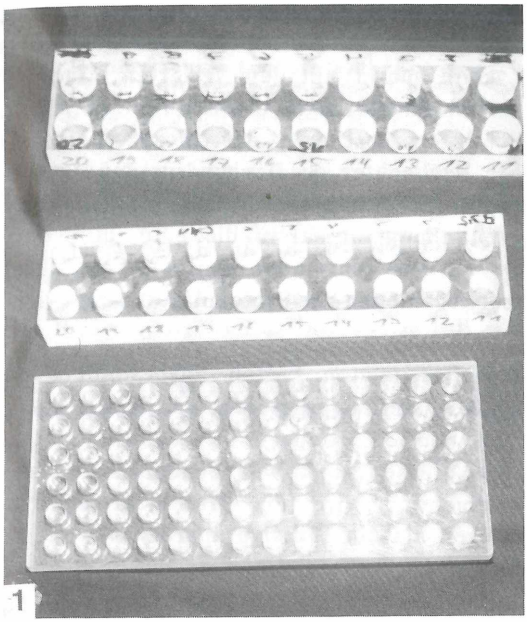

Abb. 1: Lochplatten der Lochgrößen I, II und III gemäß Tabelle 1.
Fig. 1: Plates with borings of sizes I, II, and III according to table 1.

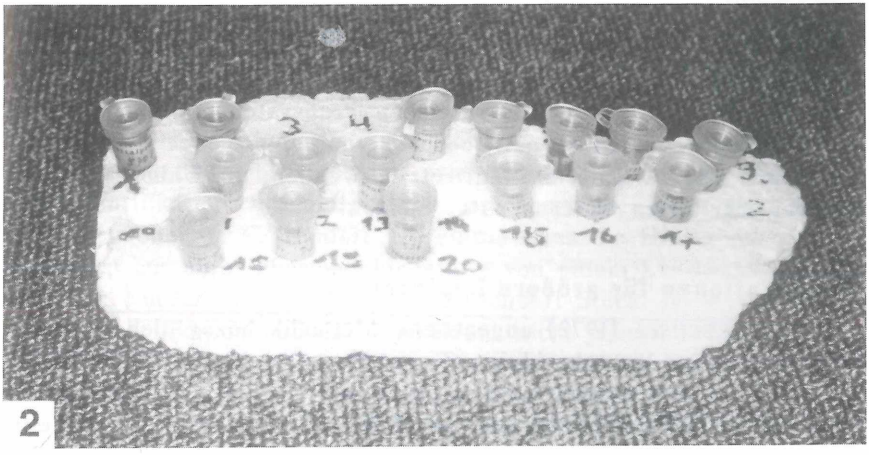

Abb. 2: "Eppendorf"-Gefäße mit Genitalpräparaten in Alkohol.
Fig. 2: "Eppendorf"-tubes with genitalia in alcohol.

©Entomologischer Verein Apollo e.V. Frankfurt am Main; download unter www.zobodat.at

und dabei die Beweglichkeit, die Bewegungsachsen der Einzelteile, das Ineinanderpassen beispielsweise von Valven und Aedoeagus selbst gesehen und verstanden hat, kann später mit dem fixierten, flachgedrückten Dauerpräparat auf einem Objektträger etwas anfangen. Nicht selten entstehen nämlich Fehlinterpretationen der Morphologie des Genitalapparats, weil ungeübte Beobachter im flachgedrückten Dauerpräparat Lagebeziehungen und Formen nicht richtig beurteilen können, beispielsweise wenn ein Valvenanhang einmal in die eine, einmal in die andere Richtung geklappt werden kann oder ähnlich. Sorgfältige Beobachtung und schriftliches Niederlegen im Protokollheft sind wichtige Ergänzungen.

Deswegen empfiehlt es sich in bestimmten Fällen, insbesondere bei sehr komplexen dreidimensionalen Genitalarmaturen, gar keine flachgedrückten Dauerpräparate herzustellen, sondern die Genitalapparate in den „Eppendorf"-Gefäßen zu belassen, auch wenn dadurch die Auswertung rein technisch etwas erschwert wird (ein Glasobjektträger ist deutlich einfacher zu fotografieren als ein Flüssigpräparat).

Bei einfacheren Strukturen, die sich noch problemlos in quasi zweidimensionale Dauerpräparate verwandeln lassen, ist sehr anzuraten, für eine Verwandtschaftsgruppe alle Präparate in jeweils der gleichen, streng normierten Form einzubetten, um eine einwandfreie Vergleichbarkeit der Präparate zu erzielen. Auch hier sollten stets erste Erfahrungen an unwichtigem Spielmaterial gewonnen werden, ehe man sich an wertvolle Einzelstücke oder Typen heranwagt.

Im übrigen ist das „Hoherodskopfverfahren" natürlich auch geeignet, Mazerationspräparate von anderen Körperteilen (Kopfkapsel, Antennen, Beine etc.) anzufertigen; jedoch sollte man dafür, auch wenn es vom gleichen Individuum unter der gleichen Präparatenummer angefertigt wird, ein eigenes Loch auf der Lochplatte und ein eigenes „Eppendorf"-Gefäß mit einem zusätzlichen Etikett verwenden, um Unübersichtlichkeit bei überfüllten Gefäßen zu vermeiden.

Modifikationen für größere Lepidoptera

Die von DRECHSEL (1972) angegebene Methodik bezog sich in erster Linie auf kleine bis sehr kleine Tiere. Der Durchmesser der Löcher von nur 9–10 mm erlaubt es nicht, auch nur mittelgroße Abdomina zu mazerieren. Deswegen ließ ich mir größere Löcher in dickere Plexiglasplatten hineinbohren, um auch mit größeren Faltern arbeiten zu können. Ich verfüge zur Zeit über drei Standardgrößen von Lochplatten (siehe Tabelle 1).

©Entomologischer Verein Apollo e.V. Frankfurt am Main; download unter www.zobodat.at

Tabelle 1: Größenverhältnisse der Lochplatten für verschiedene Schmetterlingsgruppen; Beispiele aus meiner praktischen Anwendung. Die Größe I gibt es auch als großflächige Lochplatte ähnlich wie von DRECHSEL (1972) beschrieben; alle Größen (I–III) liegen im übrigen als kleinere Platten (Gr. I) mit 52 Löchern (13 × 4 Löcher auf 19 cm × 7 cm Fläche) oder brettchenförmige Doppellochreihenträger (Gr. II/III) mit 20 Löchern (10 × 2 Löcher auf 22 cm × 5 cm [Gr. II] bzw. 24 cm × 6 cm [Gr. III] Fläche) vor.

Table 1: Sizes of plates and borings, fitting for different groups of Lepidoptera; examples from my own equipment. Size I is also used in big plates as described by DRECHSEL (1972). All sizes (I–III) are used as small plates (size I) with 52 borings (13 × 4 borings on 19 cm × 7 cm plate) or ledge-shaped double rows of borings (size II/III) with 20 borings (10 × 2 borings on plates 22 cm × 5 cm [size II], respective 24 cm × 6 cm [size III]) each.

Größe Nr. Size no.	Dicke der Platte Thickness of plate	Durchm. d. Bohrung Diameter of boring	Tiefe d. Bohrung• Depth of boring•	z. B. geeignet für folgende Gruppen e.g. useful for following groups
I	10 mm	9 mm	5/6 mm	Microlepidoptera
II	25 mm	13 mm	14/15 mm	kl./mittl. Makros small/medium Macrolep.
III	25 mm	18 mm	15/16 mm	große Bombycoidea etc. big Bombycoidea etc.

•: Tiefe am Rand/Tiefe in der Mitte. – Depth in periphery/in center of boring.

Die Größe I ist dabei gut geeignet für die Mazeration von beispielsweise Tortriciden und ganz kleinen Geometriden. Größe II findet Verwendung für bis mittelgroße Noctuiden, große Tagfalter, große Geometriden, bis mittelgroße „Spinner". Größe III schließlich ist geeignet für alle großen Bombycoidea (Sphingiden, Saturniiden etc.).

Während meiner Diplomarbeit, die sich mit der Pheromonbiologie von Tortriciden befaßte, habe ich mit zwei großen Platten der Lochgröße I die Identifikation von einigen tausend Tortricidenmännchen vorgenommen, wobei im Extremfall pro einem Loch die Hinterleiber aller Männchen aus einer Pheromonklebefalle von einem Leerungszeitpunkt mazeriert wurden, also bis zu etwa einhundert Stück. Da es dabei nur auf die Identifikation und das Auszählen, nicht jedoch auf das Anfertigen von Dauerpräparaten ankam, konnte man das vertreten; eine saubere Mazeration fand dabei wegen Überfüllung nicht mehr statt. Zur Identifikation und zum Auszählen der Genitalien mit nachfolgendem Wegwerfen der Präparate reicht diese Methode jedoch aus.

Zum Anfertigen sauber dokumentierter Dauerpräparate müssen natür-

©Entomologischer Verein Apollo e.V. Frankfurt am Main; download unter www.zobodat.at

lich alle Genitalien individuell behandelt werden. Man sollte sich im Interesse von qualitativ einwandfreier Arbeit nicht zu viele Präparate an einem Tag vornehmen; mehr als einen Lochreihenträger zu 20 Präparaten sollte man nicht pro Tag durcharbeiten, sonst leidet die Qualität der Präparation insbesondere von Feinheiten wie der Vesica etc. Auch ist es empfehlenswert, an einem Tag nur die Grobarbeit der Freipräparierens auszuführen und am nächsten Tag dann die Feinpräparation, das Flachdrücken und die Einbettung vorzunehmen.

Zur Besonderheiten der Methodik der Genitalpräparation

1. Erhalt des Abdomens

Es ist inzwischen in allen größeren Museen üblich, die Abdominalhäute der präparierten Tiere nicht mit den Weichteilen wegzuwerfen, sondern grundsätzlich alle Einzelteile aufzuheben. Dadurch können auch morphologische Details, die nicht direkt an den Genitalapparat gekoppelt sind (etwa Coremata-Taschen, Sklerotisierungen an anderen Abdominalsegmenten als dem Genitalapparat etc.), erhalten und untersucht werden. Üblicherweise werden die Objektträger dann in drei Zonen geteilt: in der Mitte das Genitalpräparat, auf der einen Seite das Etikett, auf der anderen Seite die seitlich aufgeschnittene und einschichtig ausgebreitete Abdominalhaut. Dieses Verfahren sollte auch von Nichtmuseumsentomologen übernommen werden. Insbesondere bei Typenmaterial oder sonstigen Einzelstücken ist es sehr wichtig, alle verfügbaren Teile des Falters zu erhalten.

2. Ausblasen des Aedoeagus

Soweit es technisch mittels eines Pinsels oder einer Spritze mit feinster Kanüle überhaupt machbar ist, sollte unbedingt bei jedem männlichen Genitalapparat die Vesica des Aedoeagus ausgeblasen werden. Struktur, Form und räumliche Orientierung der Vesica, Anhänge wie Cornuti oder Scobinationsfelder und weitere Feinstrukturen sind überhaupt nur so der Beobachtung zugänglich. Viele Angaben über beispielsweise Zahl, Form und Lage von Cornuti in der Literatur sind unrichtig oder unzutreffend, weil sie nur aus unausgeblasenen Aedoeagi gewonnen wurden.

Zum Ausblasen der Vesica muß zuerst der Aedoeagus aus dem Genitalapparat gelöst werden. Dies muß je nach Verwandtschaftsgruppe unterschiedlich geschehen; bei einigen Gattungen zieht man den Aedoeagus

©Entomologischer Verein Apollo e.V. Frankfurt am Main; download unter www.zobodat.at

nach hinten, bei anderen besser nach vorne aus der Juxta heraus (wieder anhand von Ausschußmaterial ausprobieren). Bei dieser Gelegenheit sollte man auch die Lagebeziehung eindeutig protokollieren: Was ist die Dorsal-, was die Ventralseite des Aedoeagus? Danach muß man versuchen, den Aedoeagus mittels eines feinen, aber harten und kurzhaarigen Pinsels so zu massieren, daß sich (in manchen Gruppen) die Vesica von selbst entfaltet. Eventuell muß dafür der Aedoeagus etwas länger als der Rest des Genitalapparats in Lauge behandelt werden. Bei größeren Arten kann man mit einer Injektionsspritze mit feinstmöglicher Kanüle (eventuell durch Sonderanpassungen wie dünnste Polyethylenschläuche oder ausgezogene Glaskapillaren verbessert) versuchen, den Aedoeagus, den man mit einer Pinzette vorsichtig hinten festhält, von hinten her auszublasen. Dabei Vorsicht, daß weder der Aedoeagus beschädigt noch er durch den Druck der Spritze aus der Präparationsschale hinausgeschossen wird. Durch eine Kombination all dieser Methoden und Fingerspitzengefühl sowie Erfahrung wird es in sehr vielen Fällen gelingen, die Vesica auszublasen. Nur bei ganz engen, langen Aedoeagi oder extrem kleinen Arten sowie bei Vorliegen von Sonderformen wird es nicht möglich sein.

3. Erhalt der Sklerotisierung des Präparats

Manche Bearbeiter lassen die Präparate zu lange in der Lauge liegen; durch zu langes Mazerieren verlieren die Genitalarmaturen aber ihre Form und werden zu lappigen Gebilden, die nur als flachste „Klatschpräparate" aufbewahrt werden können. Es sollte immer das Ziel eines guten Präparators sein, die Eigenform des Präparats soweit wie möglich zu erhalten. Ein Genitalpräparat für die flache Standardeinbettung auf Objektträgern darf nur so weich sein, daß es ohne Bruchgefahr aufgeklappt und in diesem Zustand fixiert werden kann. Die richtige Einwirkungsdauer und Konzentration der Lauge muß anhand von Spielmaterial anfangs, für jede Gattung oder Gattungsgruppe getrennt, festgestellt werden. Erfahrung und Fingerspitzengefühl sind hierfür nötig. Zu weich gewordene Präparate lassen nach der Einbettung keine realistische Interpretation mehr zu; die natürliche räumliche Beziehung der einzelnen Teile zueinander geht meist verloren.

4. Aufbewahrung über längere Zeiträume, Färbung

Natürlich kann bei Reihenuntersuchungen (etwa im Rahmen von Pheromonfallen-Serienuntersuchungen von Tausenden von Faltern), bei de-

©Entomologischer Verein Apollo e.V. Frankfurt am Main; download unter www.zobodat.at

nen es nur um die Identifikation und das Auszählen geht, auf das Anfertigen von Dauerpräparaten verzichtet werden. In diesen Fällen wird die Identifikation während des Präparierens vorgenommen und das Präparat nach Protokollierung gleich verworfen. In allen anderen Fällen jedoch muß ein ordnungsgemäßes Dauerpräparat hergestellt werden, das auch nach Jahrzehnten noch eine Bearbeitung und Untersuchung der Genitalstrukturen ermöglicht.

Eine Aufbewahrung als „Trockenpräparat", aufgeklebt mittels Insektenleim auf einem Kartonstreifen, wie es DRECHSEL (1972) als Möglichkeit empfahl, ist bei Lepidopteren grundsätzlich abzulehnen; durch das Austrocknen dringt Luft in die feinsten Verästelungen von Aedoeagus und Vesica sowie in andere Strukturen ein, die (außer durch eine aufwendige Vakuumbehandlung) nicht wieder zu entfernen ist und damit das Fotografieren dieser Details wegen der Brechung an der Trennfläche zwischen Luft und Präparat unmöglich macht. Eine ordnungsgemäße Aufbewahrung von Dauerpräparaten kann nur unter Flüssigkeit (hochprozentiger Alkohol oder Glycerin) oder in einem mikroskopischen Einbettungsmittel erfolgen.

Die Aufbewahrung als Flüssigpräparat kann am einfachsten in den bereits erwähnten Polypropylengefäßen („Eppendorf") erfolgen, sofern man eine absolut dicht schließende Serie erhalten hat (Fertigungstoleranzen führen manchmal zu nicht ganz dichten Gefäßen, aus denen der Alkohol langsam verdampft).

Dabei kann man zumindest für einige Jahre problemlos bei dem hochprozentigen Alkohol (Isopropanol oder Äthanol, etwa 90- bis 100prozentig) bleiben. In diesem Alkohol erhärten die Chitinstrukturen jedoch, so daß man die Präparate vor einer Weiterbearbeitung erst wieder aufweichen muß; dazu gibt man sie für einige Zeit (5–15 Minuten) in etwa 5- bis 10prozentigen Alkohol. Für eine Aufbewahrung über Jahrzehnte hinweg wird es wahrscheinlich empfehlenswert sein, auf die üblichen Mischungen von Glycerin mit Wasser und/oder Alkohol zurückzugreifen; entsprechende Erfahrungen liegen bei mir noch nicht vor.

Philipp M. KRISTAL (pers. Mitt.), Bürstadt, benutzt hier anstelle der „Eppendorf"-Gefäße folgende Variante: Der Genitalapparat wird in einem auf beiden Seiten mit einer erhitzten Zange zugeschweißten Polyethylenschlauch in Glycerin oder Glycerin-Alkohol-Mischung aufbewahrt. Dieser Schlauch hat den Vorteil, daß er, ohne undicht zu werden, mit auf die Nadel zu dem Falter gesteckt werden kann; er

©Entomologischer Verein Apollo e.V. Frankfurt am Main; download unter www.zobodat.at

hat aber den Nachteil, daß ein erneutes Betrachten oder Hantieren nur möglich ist, wenn der zugeschweißte Polyethylenschlauch vorher wieder aufgeschnitten wird. Eine erneute Einschweißung benötigt dann ein neues Stück Schlauch. Für größere Stückzahlen ist dieses Verfahren vielleicht weniger geeignet.

Die Aufbewahrung als Flüssigpräparat hat gewisse Nachteile: die Präparate haben keine normierte Raumorientierung; sie sind schwer zugänglich; jedes Präparat muß erst wieder in eine Schale in Flüssigkeit gegeben werden, wenn man es mit einem anderen vergleichen will; es besteht Verwechslungsgefahr, wenn man mehr als ein Präparat gleichzeitig unter dem Binokular hat. Sie kommt deswegen nur dann in Frage, wenn man es mit hochkomplexen dreidimensionalen Strukturen zu tun hat, die anders nicht zu bearbeiten sind. Eine fotografische Dokumentation solcher Präparate ist sehr schwierig und immer unbefriedigend; es empfiehlt sich hier das Anfertigen von Zeichnungen. Besseres Handling und bessere Möglichkeiten zur fotografischen Dokumentation erreicht man nur mit festen mikroskopischen Dauerpräparaten.

(Das Anfertigen von rasterelektronenmikroskopischen Fotos stellt möglicherweise eine Alternative zur Zeichnung komplexer GPs dar; jedoch ist das Präparat danach durch die Bedampfung mit Metall praktisch zerstört. Eigene Erfahrungen liegen noch nicht vor bisher.)

In diesen Gefäßen zur Flüssigaufbewahrung kann man im übrigen auch eine leichte Anfärbung mit Chlorazolschwarz vornehmen; dies ist ein Farbstoff, der bei richtig dosierter Anwendung die dünnen, membranösen Teile des Genitalapparats leicht bläulich anfärbt, während die stark sklerotisierten Abschnitte im natürlichen Rötlichbraun bleiben. Man muß aber darauf achten, daß nicht zu große Mengen Farbstoff verwendet werden, damit das Präparat nicht überfärbt und damit fast undurchsichtig wird.

5. Einbettungsmittel, Objektträger

Als Einbettungsmittel für vergleichsweise voluminöse mikroskopische Dauerpräparate (wie es Genitalpräparate naturgemäß sind) ist einzig Euparal (Handelsmarke) zu empfehlen. Kanadabalsam, Caedax oder ähnliche Mittel trocknen zu langsam; Schnelleinbettungsmittel wie etwa Entellan, Eukitt o. ä. ziehen zu viele Luftblasen beim Eintrocknen. Glyceringelatine schließlich ist nicht ausreichend beständig; solche Präparate sind nur sehr aufwendig anzufertigen und halten nicht

©Entomologischer Verein Apollo e.V. Frankfurt am Main; download unter www.zobodat.at

über Jahrzehnte, sondern trocknen trotz Abdichtung oft aus. Weiterhin fällt bei Euparal die Verwendung eines giftigen unpolaren Zwischenmediums wie etwa Xylol weg, da man direkt aus 100prozentigem Alkohol (oder unter Zwischenschaltung des speziellen Euparal-Lösungsmittels) überführen kann. Außerdem hat Euparal einen für Genitalapparate besser geeigneten Brechungsindex; ein Aufhellen mit Nelkenöl oder ähnlichen Substanzen ist in der Regel unnötig. Schließlich hat Euparal noch die sehr angenehme Eigenschaft, daß kleineste Luftbläschen, die bein Auflegen des Deckglases immer wieder auftreten können, während des Trocknungsprozesses von selbst verschwinden.

Man kann die Genitalarmaturen auf einen kleinen Streifen von chemikalienfester Polyacrylfolie in einen Tropfen Euparal geben und sie mit einem kleinen „Deckgläschen" aus gleicher Folie abdecken (die Abdominalhaut paßt hierbei nicht mehr dazu und muß verworfen werden). Diese Folienpräparate haben den Vorteil, daß sie zusammen mit dem Falter auf die gleiche Nadel gesteckt werden können. Dies ist besonders bei Referenzexemplaren für die Determination von Vorteil. Jedoch kann man diese Methode nur bei sehr kleinen Faltern und Genitalpräparaten verwenden. Außderdem sind so angefertigte Präparate nicht zu fotografieren, weil die Folien sich verziehen und keine planparallelen Oberflächen haben. Man sollte diese Methode wirklich nur in geringem Umfang und für Determinationshilfen verwenden, auf keinen Fall jedoch für Typenmaterial oder rare Einzelstücke.

Standardmethode und auch beste Methode der Wahl (außer bei extrem komplexen Strukturen, die man in Flüssigkeit aufbewahren muß, siehe oben) ist das Einbetten auf gläsernen mikroskopischen Objektträgern in Euparal und die Abdeckung mit einem handelsüblichen Deckgläschen. Bei extrem großen Präparaten, beispielsweise Saturniiden der Gattung *Citheronia* oder ähnlich, kann man Hohlschliffobjektträger verwenden; diese haben eine rundgeschliffene Vertiefung, in die man das Präparat einbringen kann, weswegen das Deckglas nicht so hoch liegt. Bei solch dicken Präparaten dringt natürlich beim Trocknen Luft ein im gleichen Maß, wie Lösungsmittel verdampft. Deswegen müssen die Präparate in den ersten 5–10 Tagen täglich kontrolliert werden, und gegebenenfalls muß zusätzliches Euparal nachgetropft werden, um den Verlust auszugleichen. Die Hohlschliffobjektträger haben hierbei den Nachteil, daß eine Luftblase, die erst einmal in den hohlen

©Entomologischer Verein Apollo e.V. Frankfurt am Main; download unter www.zobodat.at

Bereich eingedrungen ist, nur schwer wieder zu entfernen ist; bei glatten Normalobjektträgern ist das viel leichter.

Solche fertigen Objektträger lassen sich gut aufbewahren (es gibt eine Fülle von handelsüblichen Kästchen und Stapelsystemen für mikroskopische Präparate auf Normobjektträgern), sind einfach und sicher zu handhaben und sehr gut zum Fotografieren und Abzeichnen geeignet. Sie lassen auch genügend Platz für das Etikett und die Abdominalhaut. Grundsätzlicher Nachteil der Methode ist, daß die Genitalarmaturen vor dem Einbetten flachgedrückt werden müssen. Das ist bei den meisten Genitalien jedoch kein wirkliches Problem, da sie sich vollständig aufklappen lassen und ihre dreidimensionalen Strukturen nicht zu komplex sind; nicht zu weiche Sklerotisierung vorausgesetzt, können Standardpräparate alle zum Vergleich nötigen Merkmale einwandfrei erkennen lassen. Man muß beim Flachdrücken jedoch darauf achten, daß keine Beschädigungen und übermäßigen Deformationen stattfinden. Auch dies ist eine Frage der Übung und Sorgfalt sowie der Geschicklichkeit.

6. Identifikationsprobleme

Wichtigstes Problem beim Anfertigen von Genitalpräparaten ist, während des Prozesses keine Verwechslungen zuzulassen. Man muß sorgfältig darauf achten, daß die Reihenfolge eingehalten wird; daß keine Abdomina in die falschen Bohrungen hineingelegt werden; daß die freipräparierten Genitalien in das richtige „Eppendorf"-Gefäß hineingelegt werden. Diese eigentlich simplen Probleme lassen sich durch sorgfältiges Arbeiten ausschalten. Man kann durch einige Tricks die Selbstkontrolle verbessern: Man sollte in den Lochplatten stets nichtidentische Genitalien nebeneinander mazerieren: also Gattung A, Gattung B, C, A, B, A und so weiter im Wechsel, oder auch eine bekannte, eine unbekannte Art im Wechsel, damit man anhand der Präparateliste, die man während der Präparation sowieso stets aufgeschlagen an der Seite liegen haben muß, um Beobachtungen eintragen zu können, jedesmal leicht überprüfen kann, ob man noch in der Reihenfolge richtig liegt. Sorgfalt und Selbstkontrolle sind unbedingt nötig.

Auch nichtprofessionelle Entomologen können Genitalpräparate anfertigen. Diese morphologische Standardmethode hat wie jede andere Me-

©Entomologischer Verein Apollo e.V. Frankfurt am Main; download unter www.zobodat.at

thode auch ihre Schwächen; jedoch hoffe ich, daß diese Darstellung des „Hoherodskopfverfahrens" auch andere Entomologen dazu anregt, selbst einmal einzusteigen in die Methodik. Sie ist für viele Zwecke hilfreich und weniger kompliziert, als es auf den ersten Blick aussieht.

Literatur

DRECHSEL, U. (1972): Ein Verfahren zur Serienanfertigung von Genitalpräparaten bei Insekten. – Dtsch. Entomol. Z., N.F., **19**: 327–329.

Anschrift des Verfassers:

Dipl.-Biol. Wolfgang A. NÄSSIG, Schumacherstraße 8,
D-6052 Mühlheim/Main 3
(neue Postleitzahl ab dem 1. Juli 1993: D-63165 Mühlheim/Main)